体外診断用医薬品（放射性）　　**2012年12月改訂（第11版）
承認番号 20800AMY10137000　　*2011年9月改訂（第10版）

1,25-ジヒドロキシビタミンD_3キット

1,25（OH）$_2$D RIAキット「TFB」

（ラジオイムノアッセイ（RIA）法による
血清または血漿中の1,25-ジヒドロキシビタミンD_3測定用試薬）

この添付文書をよく読んでから使用して下さい。

【全般的な注意】

（1）添付文書に記載された使用方法に従って使用して下さい。
記載された使用方法および使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証いたしかねます。
（2）本品は体外診断用にのみ使用して下さい。
（3）本品には放射性物質が含まれていますので、放射線障害防止法、医療法等の法令に従い、無用の被ばくを避けるよう注意して取り扱って下さい。
（4）本品はラジオアイソトープ管理区域内で使用して下さい。
（5）本品による測定結果は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて総合的に判断し、臨床診断するための補助にして下さい。
（6）本品は防腐剤としてアジ化ナトリウムを使用しています。アジ化ナトリウムは鉛管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成する可能性がありますので、未使用の試薬を廃棄する場合には、大量の水とともに流して下さい。

【形状、構造等（キットの構成）】

（1）標準液A～F（CAL0～5）（凍結乾燥品）……　各1mL用・6バイアル
（2）トレーサー試液（Ag ^{125}I）…………………………… 15mL・1バイアル
1,25-ジヒドロキシコレカルシフェロール -ヨウ化ヒスタミン（^{125}I）
（1,25（OH）$_2$D$_3$ -ヨウ化ヒスタミン（^{125}I））　製造日において111kBq／バイアル
（3）抗体試液（Ab）……………………………………… 15mL・1バイアル
抗1,25（OH）$_2$D$_3$ヒツジ血清
（4）B/F分離剤（Sac-Cel）…………………………… 10mL・1バイアル
セルロース結合抗ヒツジIgG抗体（ロバ）を含む
（5）アッセイ緩衝液（BUF）…………………………… 10mL・1バイアル
（6）洗浄液（WASHBUF 20×）………………………… 25mL・1バイアル
（7）コントロール1,2（CTRL1,2）（凍結乾燥品）……　各1.2mL用・2バイアル
乾燥ヒト血清

本キットには検体の前処理用に、前処理セット（モノクローナル抗体を用いたカラムを含む）を添付しています。検体の前処理方法は、前処理セットの取扱説明書を参照して下さい。

＜添付品＞　前処理セット
（1）脱脂剤（REAG 1）………………………………… 1.5mL・1バイアル
（2）前処理カラム（SORB）……………………………… 56本
（3）溶離液（REAG 2）※ ……………………………… 27mL・1バイアル
※注意:引火性です。バイアルの栓をしっかりと締め、火気から遠ざけて下さい。

【使用目的】

血清中または血漿中の1,25-ジヒドロキシビタミンD_3の測定

【測定原理】

本キットは、競合法によるラジオイムノアッセイ（RIA）キットです。前処理後の検体中の1,25（OH）$_2$D$_3$と抗体試液中の抗体とを反応させた後、1,25（OH）$_2$D$_3$に「^{125}I」を標識したトレーサーを加え、競合反応を行います。次にB/F分離剤（セルロース結合抗ヒツジIgG抗体）を加え、反応後の抗体を沈殿させます。未反応のトレーサーを除去後、沈殿物の放射能量を測定します。検体中の1,25（OH）$_2$D$_3$量に反映して減少する放射能量が得られます。標準液を同様に測定して得られる標準曲線から1,25（OH）$_2$D$_3$量を求めます。

【操作上の注意】

すべての試薬類は使用時に18～25℃に戻してから使用して下さい。また、再び保存するときは、標準液とコントロールは−20℃で、その他の試薬は2～8℃で保存して下さい。溶解後の標準液およびコントロールは−20℃保存でキットの有効期限まで安定です（凍結融解の繰り返しは避けて下さい）。

測定試料の性質、採取法

（1）検体には血清または血漿を使用して下さい。12時間以上保存する場合は−20℃以下で保存し、凍結融解の繰り返しは避けて下さい。
（2）明らかな溶血、乳びあるいは凝固している検体は使用しないで下さい。
（3）検体の前処理は、添付の前処理セットを用いて行って下さい（前処理方法は、前処理セットの説明書を参照して下さい）。

妨害物質

次の交差反応性を示します。
1,25（OH）$_2$D$_2$：91%
25（OH）D$_3$：＜0.01%
24, 25（OH）$_2$D$_3$：＜0.01%

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

（1）標準液:使用時に精製水1mLを加え、栓をし、数回転倒混和して完全に溶解します。
（2）洗浄液（濃縮）:精製水を加え、全量500mLとします。
（3）コントロール:使用時に精製水1.2mLを加え、栓をし、15～20分静置した後、数回転倒混和して完全に溶解します。
（4）その他の試薬はそのまま使用します。試薬は使用前に転倒混和して下さい。
（5）すべての試薬は使用前に18～25℃に戻してから使用して下さい。

2. 必要な器具・器材・試料等

（1）硬質ガラスチューブ（12×75mm）
（2）マイクロピペットおよび使い捨てチップ
（3）試験管ミキサー
（4）恒温器（2～8℃）
（5）遠心分離器（12×75mmチューブ用、2,000xg）
（6）ガンマカウンター

3. 検体の前処理

前処理セットにより検体の前処理を行い、次項のRIA法により測定を行って下さい（前処理セットの説明書を参照して下さい）。

4. 測定（操作）法（RIA法）

すべての試薬を18～25℃に戻します。また、使用前に穏やかに転倒混和します。
標準液、ブランク（以下、NSB）測定用のガラスチューブを用意します。
※これらは2重測定で行って下さい。
（1）各標準液100μLを各々チューブに分注します。また、アッセイ緩衝液300μLをNSB測定用チューブに分注します。
（2）前処理した検体100μLをチューブにとります（前処理にて乾固した検体を、アッセイ緩衝液100μLで溶解します。前処理に用いたチューブをそのまま使用できます）。
（3）NSBを除くすべてのチューブに抗体試液200μLを加えます。

(4)泡立てないよう混和し、2～8℃で16～18時間反応させます。

(5)トレーサー試液200μLをすべてのチューブに加えます。さらに、トータルカウント(以下TC)用にチューブを2本用意し、トレーサー試液200μLを加えます。泡立てないよう混和し、18～25℃で1時間反応させます。

(6)TC用チューブを除くすべてのチューブにB/F分離剤100μLを加えます(B/F分離剤は、使用前によく混和して下さい)。泡立てないよう混和し、18～25℃で30分間反応させます。

(7)TC用チューブを除くすべてのチューブに洗浄液4mLを加え、2,000xg、20分間遠心分離します。

(8)TC用チューブを除くすべてのチューブの上清を捨て、ペーパータオル等の上でチューブを逆さにして液を完全に取り除きます。

(9)チューブの放射能量をガンマカウンターにて1分間測定します。

【操作法概略】

	標準液	前処理済み検体、コントロール	NSB(2本)	TC(2本)
標準液	100μL	–	–	–
検体、コントロール	–	100μL	–	–
アッセイ緩衝液	–	–	300μL	–
抗体試液	200μL	200μL	–	–
インキュベーション:2～8°C、16～18時間				
トレーサー試液	200μL	200μL	200μL	200μL
インキュベーション:18～25°C、1時間				
B/F分離剤	100μL	100μL	100μL	–
インキュベーション:18～25°C、30分				
洗浄液	4mL	4mL	4mL	–
2,000xg、20分間遠心分離後、上清除去				–
ガンマカウンターにて1分間測定				

【測定結果の判定法】

以下の通り標準液、コントロール、検体の結合率(B/B0%)を求めます。

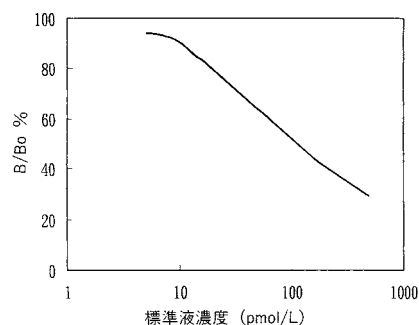
$$B/B_0\% = \frac{\text{標準液等の平均カウント}-\text{NSB平均カウント}}{\text{標準液Aの平均カウント}-\text{NSB平均カウント}} \times 100$$

片対数グラフを用い、縦軸にB/B0%、横軸に1,25(OH)$_2$D$_3$濃度をプロットし、標準曲線を作成します。検体のB/B0%を計算し、標準曲線から濃度を読み取って下さい。

＜標準液測定結果例＞

チューブNo.	表示濃度(pmol/L)	cpm	平均cpm−NSB	結合率B/B0(%)	結合率B/T(%)
1,2	TC	40581 40217	39639		
3,4	NSB	793 727	(760)		
5,6	0	10114 9989	9292	100	23.4
7,8	7	9349 9479	8655	93.1	21.8
9,10	15	8579 8539	7799	83.9	19.7
11,12	54	6532 6541	5777	62.2	14.6
13,14	170	4805 4744	4015	43.1	10.1
15,16	488	3412 3562	2726	29.3	6.9

TC:トータルカウント　NSB:ブランク

＜標準曲線例＞

【性　能】

(1)感度試験

最低濃度標準液(0pmol/L)と最高濃度標準液(425～575pmol/L)との結合率(B/T%)の差は、10%以上です。

(2)特異性(正確性)試験

既知濃度の管理血清を測定するとき、既知濃度の±25%以内です。

(3)同時再現性試験

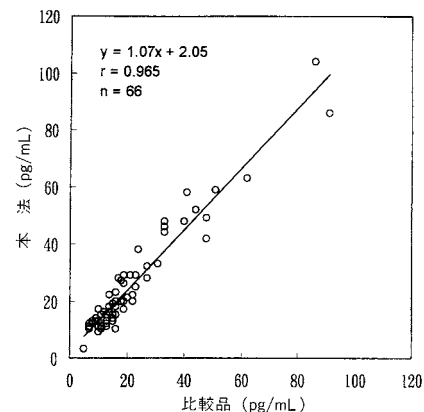
同一検体を3回同時に測定するとき、CV値は15%以下です。

(4)測定範囲

5～約500pmol/L(2.1～約210pg/mL)

(上限値は最高濃度標準液の表示値です。また、下限値は、0濃度標準液を10回測定したcpmの平均−2SDから求めた値です。)

相関性試験成績

本キットと他社キット(non HPLC-RRA法)との相関性を検討したところ、次のような相関性が得られました。

単位「pmol/L」から「pg/mL」への換算は、0.42を乗じます。

較正用基準物質

製造元製基準物質

【使用上または取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

(1)検体または試薬を分注する際に、直接口でピペットを吸わないで下さい。

(2)誤って試薬が目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けて下さい。

(3)検体は肝炎等の感染源と見なし、適切な予防措置のもとに慎重に取り扱って下さい。

(4)キットのコントロールは検査時にHBs抗原、HIV-1抗体、HIV-2抗体およびHCV抗体陰性の血清を使用していますが、取扱いは慎重に行って下さい。

2. 使用上の注意

(1)キットは入手後、直ちに2～8℃で保存して下さい。

(2)すべての試薬は使用時に18～25℃に戻してから使用して下さい。再び保存するときは、標準液とコントロールは−20℃で保存して下さい(溶解後の標準液およびコントロールは、−20℃で保存した場合、キットの有効期限まで安定です。ただし、凍結融解の繰り返しは避けて下さい)。

一方、標準液とコントロールを除く試薬は、2～8℃で保存し、凍結しないで下さい。誤って凍結させた場合、品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので、使用しないで下さい。

(3)ロットの異なるキットの構成試薬を組み合わせて使用しないで下さい。

(4)有効期限を超過したキットを使用しないで下さい。

(5)使用に際しては、必ず測定装置の取扱説明書を読んで下さい。測定装置は使用前に充分に調整して下さい。

(6)バイアル中の試薬が微生物に汚染されないように注意して下さい。

(7)貯蔵やインキュベーションの際には、必要以上の熱や光を試薬に与えないで下さい。

(8)指定された反応温度以外では使用しないで下さい。

(9)キットの中の容器を他の目的に転用しないで下さい。

3. 廃棄上の注意

(1)本キットは防腐剤としてアジ化ナトリウムを使用しています。アジ化ナトリウムは鉛管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成する可能性がありますので、未使用の試薬を廃棄する場合には、大量の水とともに流して下さい。

(2)検体および検体に接触した器具、試薬および試薬容器は感染の危険があるものとし、オートクレーブ等で滅菌処理するか、1%次亜塩素酸等の消毒液に浸して処理して下さい。

(3)使用後の試薬、器具等を廃棄する場合は、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物、産業廃棄物または放射性廃棄物として処理して下さい。

4. 放射性物質の取扱い上の注意

(1)本試薬はアイソトープ管理区域内で使用して下さい。

(2)身体の汚染防止のため、作業室では実験着あるいは他の保護衣類を着用し、使い捨て手袋を使用して下さい。

(3)作業室では飲食、喫煙および化粧はしないで下さい。

(4)検査中に試薬やチューブの内容物をこぼした場合は速やかに完全に拭き取り、放射性廃棄物として処理して下さい。

(5)放射性廃棄物の処理は放射線障害防止法、医療法等の法令に従い、無用の被ばくを避けるようにして下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8℃(禁凍結)

有効期間：製造日から8週間

有効期限は外箱をご参照下さい。

【包装単位】

1,25(OH)2D RIAキット「TFB」　1キット　(72回用)

(包装内容)

1,25(OH)2D RIAキット「TFB」　72回用

前処理セット　56セット

【主要文献】

(1)Fraser DR, et al.: Nature 228:764, 1970.
(2)Gray R, et al.: Science 172:1232, 1971.
(3)増田園子 他:日本臨床683:712, 1995.
(4)M. Matsuoka, et al.: J. Nutr. Sci. Vitaminol. 35:253, 1989.
(5)清野佳紀 他:ホルモンと臨床41:199, 1993.
(6)松本俊夫 他:ホルモンと臨床 41:491, 1993.

【問い合わせ先】**

株式会社テイエフビー　学術サービスグループ
〒103-0007　東京都中央区日本橋浜町2-62-5
TEL: 03(5695)9353　FAX: 03(5695)9350

〈製造販売元〉*

株式会社テイエフビー
東京都八王子市石川町935
TEL 042(648)4165

〈製造元〉

IMMUNODIAGNOSTIC SYSTEMS LIMITED
BOLDON NE35 9PD ENGLAND

170011A